

Pyridoxine 5-disulfide(Pyrithioxine)の作用機作 に関する生化学的研究

著者	遠藤 賢裕
号	45
発行年	1972
URL	http://hdl.handle.net/10097/15645

氏 名 (本 籍) えん どう よし ひろ
遠 藤 賢 裕

学 位 の 種 類 薬 学 博 士

学 位 記 番 号 薬 博 第 4 5 号

学位授与年月日 昭 和 4 7 年 7 月 1 2 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 1 項該当

研究科専門課程 東北大学大学院薬学研究科
(博士課程) 薬学専攻

学 位 論 文 題 目 Pyridoxine 5 - disulfide (Pyri-
ithioxine) の作用機作に関する生化学的研究

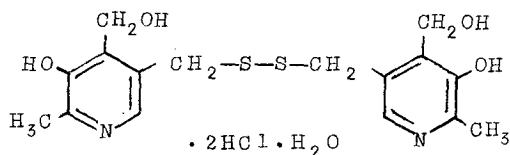
(主 査)

論文審査委員 教授 内 山 充 教授 小 澤 光

教授 南 原 利 夫

論文内容要旨

Pyriithioxine はビタミン B₆ 誘導体の一つで、ピリドキシン 2 分子がジスルフィド結合した次のような構造を有し、



化学名は、bis3-hydroxy-4-hydroxymethyl-2-methyl-pyridyl-5-methyl-disulfide dihydrochloride hydrate である。

ビタミン B₆ はピリドキサルリン酸 (PALP) やピリドキサミンリン酸として、アミノ酸、糖、蛋白質、脂質等の代謝に、補酵素として重要な役割を果たすことが知られているが、pyriithioxine は B₆ 欠乏状態で低下する脳内の glutamate decarboxylase 活性を回復しないこと、デスオキシピリドキシンによる痙攣を抑制しないこと、PALP-酵素の補酵素にならないこと、および pyriithioxine の大量投与による痙攣に対してピリドキシンやピリドキサルが回復効果を持たないことなどから、ビタミン B₆ 作用も抗ビタミン B₆ 作用もないことが知られている。

臨床的には、頭部外傷後遺症や脳血管障害に伴う諸症状、アルコール中毒、老年性痴呆などに有効と報告されている。その作用機作は主として脳のグルコースや酸素消費を正常化するなど、脳代謝機能の改善にあるとされ、脳代謝改善薬 (又は脳代謝試括薬) として神経科領域で広く使用されている。

動物実験でも、脳のグルコースやナトリウムイオン取込み促進、脳波の改善、脳血流量の増加、barbiturates potentiation などが知られている。

現在、脳代謝試括薬は種類も少なく、また作用機作も明らかではないが、有効とされる症状が決定的な治療法を欠く精神科領域の多方面に渡るため、今後更に使用が増加するものと思われる。

本論文では、pyriithioxine の作用機作解明の一環として barbiturates potentiation に着目し、研究を行った。

一般に薬物の生体内変化 (代謝) は、その薬物の血中濃度、体内分布、排泄を支配する大きな要因となり、フェノバルビールによる誘導など肝薬物代謝酵素活性の変動が、ある薬物による他の薬物の効力変化の原因と考えられる場合が多い。そこで、まず pyriithioxine の肝薬物代謝酵素に対する作用を検討し、pyriithioxine はアミノピリンやメベリジンの N-脱メチル反応、p-ニトロアニソールの O-脱メチル反応、p-ニトロ安息香酸の還元反応、プロカインや EPN (O-

ethyl, O-p-nitrophenyl phenylphosphothioate) の加水分解反応, アニリンやヘキソバルビタールの水酸化反応の全てを抑制することを知った。従つて, pyri thio xine の barbiturates potentiation は肝薬物代謝酵素阻害によるものと思われた。しかし, 肝薬物代謝酵素阻害は pyri thio xine 投与後 4~6 時間後に現われ, 8~10 時間後に最大となるのに対して, ペントバルビタールやヘキソバルビタール睡眠時間の増加は, pyri thio xine 投与直後から認められる。このことは pyri thio xine の barbiturates potentiation は, 1) pyri thio xine 投与後短時間で発現する薬物代謝酵素阻害に関係しない部分と, 2) pyri thio xine 投与後 4 時間以上経過してから現われる薬物代謝酵素阻害による部分との二つに区分できることを示唆する。

血液-脳関門の透過性を高める薬物は, 一般に barbiturates potentiation 作用を持つことが知られているので, 次に, pyri thio xine の血液-脳関門に対する作用を検討した。その結果, pyri thio xine 投与動物では 1) の薬物代謝酵素阻害と無関係な barbiturates potentiation が発現している時点で, 正向反射消失時の脳内ペントバルビタール濃度が対照よりも増加していることが明らかとなつた。また, ペントバルビタールばかりでなく, 脂肪酸, グルコース, アミノ酸, カルシウムイオンの脳への移行も pyri thio xine によつて増加したことから, pyri thio xine は血液-脳関門の物質透過を高める作用を持つことを知った。

正常状態では, 能動輸送によつて運ばれると考えられているグルコースやアミノ酸と, 受動輸送で運ばれる脂肪酸との pyri thio xine による脳への移動増加に特に差が認められないことは, 非特異的な透過性亢進が起つていることを考えさせるので, 次に, 以下に述べるトレーサーを用いて pyri thio xine の血液-脳関門に対する作用機構を検討した。

イヌリンは一般に細胞内には入らないとされ, 組織の細胞外間隙の測定に用いられる。 ^{131}I -血清アルブミンは正常の毛細血管壁を通過しないため, 毛細管の破壊があるかどうかを調べる目的で使用される。pyri thio xine は組織への ^{14}C -イヌリンの移行を促進するが, 血中 ^{14}C -イヌリン量は対照に比し, やゝ減少する傾向を示した。このことは pyri thio xine によつて毛細血管透過性が亢進したか, あるいは, 組織の間隙が拡大したかのいずれかを意味するが, 組織水含量が pyri thio xine 投与によつても変化しないこと, およびイヌリンが組織内外で平衡に達するには 4~6 時間を要するのに, この場合には 10 分間の処理時間で既に増加していることから, pyri thio xine による組織への物質移行促進は, 組織の膨潤によるのではなく, 毛細血管透過性の亢進によるものと考えてよい。また, ^{131}I -人血清アルブミンの組織への移行には, pyri thio xine 投与動物と対照との間で差が認められなかつたことは, 血管拡張による見掛け上の増加や, 毛細血管壁の破壊による増加ではないことを示している。

上記のトレーサーの他に, トリパブルーその他の酸性色素は, 毛細血管透過性の変化を調べるト

レーザーとして古くから使用されているが、pyrithioxine 投与動物では脳以外のほぼ全身でトリパンブルーによる染色の増加が認められたことは、pyrithioxineによる毛細血管の透過性亢進が全身に非特異的に起ることを示している。

現在、血液-脳関門の実体について統一された解釈は無いが、毛細血管又はその周辺構造に存在するとする説が有力である。しかしDobbing により提唱されたように、脳の代謝活性が物質透過の選択性に反映するという可能性も当然、考えなければならない。そこで、 ^{14}C -octanoate 由来の放射活性が脳のどの脂質画分に見出されるかを検討したが、pyrithioxine投与による増加は遊離脂肪酸画分のみ見出されることから、pyrithioxineは脳の脂質代謝活性には影響を与えない。このことと、前述した如く、能動輸送で取込まれる物質と受動輸送で取込まれる物質との間で、pyrithioxine による増加率に著名な差はなく、またpyrithioxineは陽イオン依存性ATPase 活性に影響を与えないことから、pyrithioxine投与後短時間で認められる血液-脳関門の透過性亢進は、代謝活性とは関係しないものと思われる。

従つて、pyrithioxineによる血液-脳関門の透過亢進は、脳毛細血管の受動輸送増加によるものと考えられる。

近年Joriらは、正常動物にペントバルビタールを投与した場合、覚醒時の脳内ペントバルビタール濃度は殆んど一定であるが、アンフェタミン（中枢興奮薬）投与動物では、覚醒時の脳内ペントバルビタール濃度が正常動物よりも高いことを報告した。またRichards Taylor はバルビツール酸類の脳内最小有効濃度を低下させる物質は、barbiturates potentiationを起すことを示している。pyrithioxine 投与動物で、覚醒時の脳内ペントバルビタール濃度が対照のそれよりも低いことは、pyrithioxineが脳のペントバルビタールに対する感受性を高める作用をも持つことを示唆する。

以上のことから、pyrithioxineのbarbiturates potentiationには、1) 肝薬物代謝酵素阻害、2) 血液-脳関門の透過性増加、3) 中枢神経系のバルビツール酸類に対する感受性増加の三つが関係すると考えられる。

次に、pyrithioxineの血液-脳関門に対する作用機構を検討した。Met alfeらはクロロプロマジン等の局所麻酔薬やアルコール系麻酔薬が赤血球膜の脂質-蛋白質間結合を変化させることによつて、膜の水やカリウムイオン透過性を増すことを報告した。そこで、生体内で蛋白質と親水性結合で強く結びついていると考えられている磷脂質に対するpyrithioxineの作用を検討した。その結果、pyrithioxine投与により脳への物質移行が促進されている時点では、 CHCl_3 -MeOH (2:1) で抽出される磷脂質量は対照よりやや増加する傾向を示し、 CHCl_3 -MeOH (2:1) 抽出後の組織残渣から、アンモニア飽和 CHCl_3 -MeOH (7:1) で初めて抽出される、所謂、tightly-bound phospholipid は明らかに減少していた。このことは、

pyrithioxineによつて生体膜内での磷脂質と蛋白質との結合状態に変化が起つたことを示すと考えられ、膜構造の looselification と表現した。

この *in vivo* で認められた磷脂質存在状態の変化と物質透過性の変化とを関連させるために *in vitro* で肝ライソゾームをモデル生体膜として用い、pyrithioxine の作用を検討した結果、pyrithioxine 処理によつて肝ライソゾームの available enzyme activity の増加と tightly-bound phospholipid 量の減少が起ることを知つた。肝ライソゾームの available enzyme activity の増加は、Shibko らによりライソゾーム膜の基質透過性の増加によることが示され、また、de Duve らはライソゾーム酵素活性の変化は、ライソゾーム膜の基質や酵素分子の透過性の変化によるとしている。

従つて、pyrithioxine は、生体膜に作用して膜内の脂質と蛋白質間結合に変化を与え（結合力を弱めるように働く）、その結果、膜の物質透過性を増加させると思われる。

審 査 結 果 の 要 旨

Pyrithioxineは現在脳代謝改善薬として神経科領域でひろく使用されている。その作用は脳へのグルコースやナトリウムの取込み促進、血流量の増加、バルビツレート効果の賦活などであり、現象として極めて興味あるものであるが、機構に関しては全く不詳であつた。この種の薬物は今後益々改良が加えられ、必要度の高まるものであるので、生化学的に生体との相互作用を詳細に検討することは重要な課題となつてきた。

本論文はPyrithioxine(bis-3-hydroxy-4-hydroxymethyl-2-methylpyridyl-5-methylsulfide·2HCl)の上記作用解明を試み、バルビツレート効果の賦活に関連あると思われる薬物代謝酵素への影響、血液-脳関門の透過性への影響を検討し、それぞれさらに詳細な、物質レベルでの追究をおこなつた。

先ずマウス肝ミクロソームにおけるN-脱メチル、O-脱メチル、還元、水酸化の諸反応はPyrithioxine投与によつて著明に抑制された。これが一つの作用機構であることは明らかである。しかし肝薬物代謝阻害はPyrithioxine投与後4~6時間で現われ8~10時間で最大になるのに対し、バルビツレート効果を賦活するPyrithioxineの作用は投与直後から短時間で出現する部分と8~10時間後に現われる部分の2部がある。後者はたしかに薬物代謝阻害で説明できるが前者の機構の説明にはならない。

そこで次に血液-脳関門内に関して研究した。その結果、前記短時間後の有効時に、脳内バルビツレート濃度が高められていことを知つた。さらに脂肪酸、アミノ酸、グリコース、カルシウムイオンの脳への移行もPyrithioxine投与で高められたので、非特異的な透過性亢進が起つていることが判明した。

次に ^{14}C -イヌリン、 ^{131}I -血清アルブミン、トリパンプルーの3者をトレーサーとして用いて詳細に上の現象を検討し、結論として脳毛血管の受動輸送増加によるものということを明らかにした。

さらにこのような作用は分子レベルで如何なる物質変動によるものかを追究するために、脳や肝の細胞膜で物質輸送に中心的役割を果たしていると考えられるリン脂質-タンパク質結合物の性状に対するPyrithioxine投与の影響を見た。その結果、通常の脂質抽出では結合型脂質として容易には抽出され難いセリン-あるいはイノシトール-リン脂質が、極めて容易に抽出される。すなわちタンパク質とリン脂質の結合のゆるみが生じていることが認められた。

ジスルフィド型のこのような生体成分誘導体は、以上のような傾向を有するのかも知れない。そのことは単にPyrithioxineの作用機作の解明に止まらず、薬物を作用点に到達せしめる重要な手段として、あるいは生体膜の構造と機能を解明する手がかりとしてつきぬ興味と暗示を与えるものである。

以上本論文は多くの新知見を含むと共に、今後薬物の作用の生化学的解明に多大の貢献をなし得るものを有しており学位論文として価値あるものと認める。